VERSUCHE ÜBER DEN

DURCHTRITT PATHOGENER BACTERIEN DURCH DIE INTACTE LUNGENOBERFLÄCHE.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN, CHIRURGIE UND GYNAECOLOGIE

DER HOHEN MEDICINISCHEN FAKULTAET

AN DER

KÖNIGL. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

UNTER DEM PRÄSIDIUM

DES HERRN GEH.-R. PROF. DR. v. NUSSBAUM

VORGELEGT VON

EUGEN ENDERLEN

APPROB. ARZT

MÜNCHEN 1888.

DRUCK VON M. ERNST (VORM. G. POLLNER).

VERSUCHE ÜBER DEN

DURCHTRITT PATHOGENER BACTERIEN DURCH DIE INTACTE LUNGENOBERFLÄCHE.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN, CHIRURGIE UND GYNAECOLOGIE

DER HOHEN MEDICINISCHEN FAKULTAET

AN DER

KÖNIGL. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

UNTER DEM PRÄSIDIUM

DES HERRN GEH.-R. PROF. DR. v. NUSSBAUM

VORGELEGT VON

EUGEN ENDERLEN

APPROB. ARZT

MÜNCHEN 1888.

DRUCK VON M. ERNST (VORM. G. POLLNER).

Bei der Frage, ob pathogene Pilze von der Lungenoberfläche aus in das Gewebe derselben eindringen und von da aus den ganzen Körper inficieren können, werden vor Allem die histiologischen Verhältnisse berücksichtigt werden müssen. Zunächst wird es sich um die Stellen des Durchtrittes durch die Wandungen der Lungenalveolen in das Saftkanalsystem und in die Lymphgefässe handeln.

Nach der Anschauung von Wywodzoff sammelt sich die Lymphe innerhalb der Alveolenwand in wandungslosen Räumen an, welche jedoch immer in der Ebene der Wand liegen und nie die Blutcapillaren als vollständige Umscheidung begleiten; diese Räume folgen nicht ausschliesslich dem Verlaufe der Capillaren, sondern kreuzen sich sehr häufig mit ihnen. In den Maschenräumen zwischen den Capillargefässnetzen bilden die Lymphgefässanfänge meist grössere Ansammlungen. Wo die Lymphräume der Luftbläschen zu einem gemeinschaftlichen Abzugskanal in der Nachbarschaft eines Blutgefässes zusammentreten, liegen zahlreiche Lymphkörperchen eingebettet, wie das in den Lymphwegen ohne eigene Wand der Fall zu sein pflegt. Ferner dringt Injectionsmasse innerhalb der Alveolenwand längs des Verlaufes der elastischen Fasern vor.

Klein beschreibt ein System von unregelmässigen Lacunen, welche durch feinere Kanäle untereinander

kommunicieren. Er und Wywodzoff sind also darüber einig, dass die Lymphe innerhalb der Alveolenwand in einem System von feinsten Kanälen mit lacunären Erweiterungen, aber ohne selbstständige Wandungen enthalten sei. Die bei der anatomischen Untersuchung gewonnenen Resultate werden nicht nur vollkommen bestätigt, sondern auch ergänzt durch die Versuche, bei welchen Infusionen gelöster und körniger Farbstoffe in die Bronchien behufs des Nachweises von Saftbahnen ausgeführt wurden.

Sikorsky war wohl der erste, welcher derartige Versuche machte. Nahm dieser zur Infusion gelösten Karmin, so fand er in den Lungenalveolenwänden ein Netz gefüllt, das aus sich durchkreuzenden Kanälchen und Knotenräumen besteht. Die Knotenräume haben eine dreieckige, rhombische oder sternartige Form und stehen mittelst feiner Kanälchen mit dem Lumen der Lungenalveolen in Verbindung. In den Inseln zwischen den Schlingen der Blutcapillaren liegen die Knotenräume; die verbindenden Kanälchen gehen bald über, bald unter den Blutgefässen weg.

Wittich und Kuettner kommen bei der Infusion von indigschwefelsaurem Natron zu fast gleichen Resultaten. Kuettner sah in der Alveolenwand blaue, stern- und spindelförmige Zeichnungen, welche durch feine Fortsätze sowol untereinander, als mit gleichgefärbten interfibrillären Räumen zusammenhängen. An Stelle der stern- und spindelförmigen Anschwellungen fand er wandständige Zellen mit ungefärbten Kernen.

Schestopal injicierte indigschwefelsaures Natron in Froschlungen; er fand an der inneren Oberfläche

eine zierliche Zeichnung, hervorgerufen durch dunkle körnige Ausscheidungen zwischen den ungefärbten Epithelien. An den Orten, an welchen mehrere Zellen zusammenstiessen, waren dunkle blaue, runde Punkte, an manchen Stellen vollständige Kittleistenzeichnungen. Unter dem Epithel sah er spindelförmige verästelte Figuren, die untereinander durch feine Ausläufer verbunden waren.

Um die Art des Durchtrittes durch die Alveolenwand festzustellen, wurden Versuche mit Eingiessen von Farbstofflösungen gemacht; sie hatten aber keinen Erfolg. Als Schestopal bei Fröschen Infusion von Tuschemischungen und Zinnoberaufschlemmungen in die Lungensäcke machte, zeigte sich die Ablagerung dieser körnigen Farbstoffe an der Stelle der Kittleisten, ferner Füllungen des Saftkanalsystems der Alveolenwände und grösserer Lymphgefässe, sowie der Zusammenhang dieser Bahnen.

Arnold machte Versuche mit starken Russzerstäubungen und da sah er Ablagerungen von Russkörnchen nicht nur auf und in den Epithelien, sondern auch zwischen denselben. Die Anhäufungen zwischen den Epithelien waren oft so stark, dass Arnold den Kittleisten entsprechend schwarze netzförmige Zeichnungen fand. Er kommt zu dem Schlusse, dass staubförmige Elemente in die zwischen den Alveolarepithelien gelegenen Intercellularräume eintreten; von hier aus gelangen sie in das Saftkanalsystem der Alveolenwand, später erst in die Lymphgefässe. Die Alveolenwand selbst besitzt keine Lymphgefässe mit eigenen Wandungen. Der Staub kann nun frei, wie Rindfleisch von Kohlentheilchen angibt, in das

Lungengewebe eintreten, oder er ist an Staubzellen gebunden. Arnold unterscheidet zwischen lymphoiden und epithelialen Staubzellen. Die ersteren erklärt er als ausgewanderte weisse Blutkörperchen, welche Staub in sich aufgenommen haben. Die letzteren sind nach ihm desquamierte Epithelien, die vor oder nach der Desquamation Staub in sich aufnehmen.

Friedländer hatte Contractilität der sogenannten lymphoiden Zellen wahrgenommen, diese können also activ zwischen die Epithelien eindringen; von den epithelialen glaubt es Arnold auch annehmen zu dürfen. Von den in der Umgebung von Lymphgefässen angehäuften Staubmassen sagt er, dass sie zum grossen Theile von den Saftbahnen dahin verschleppt werden, nicht von den Lymphgefässen.

Auf seinem Wege zu den Bronchialdrüsen kann der Staub in den sogenannten pulmonalen Lymphknötchen zum Theile zurückgehalten werden. Diese Lymphknötchen bilden nach Arnold einen wichtigen Bestandtheil des lymphatischen Apparates der Lunge, sie sind eine Art Filter. Eine weitere Ablagerungsstätte sind die subpleuralen und mediastinalen Lymphknötchen.

In die subpleuralen Lymphgefässe soll der Staub von den subpleuralgelegenen Lungenalveolen auf dem Wege der Saftbahnen gelangen.

Es wurde auch von verschiedenen Forschern festzustellen gesucht, in welcher Zeit Staub nach den Bronchialdrüsen gelange und nachweisbar sei.

Knauff fand Russ nach 3 Tagen in demselben.

Ins, der den Transport der corpulären Elemente schliesslich durch Staubzellen vermittelt denkt, da der

Staub in den Bronchialdrüsen an dieselben Zellen gebunden sei, wie in den Alveolen, fand denselben schon nach 6 Stunden in den Drüsen. Reichlicher war derselbe nach 12 Stunden vorhanden. Beizufügen ist, dass diese Resultate nach Einblasung in die Trachea gewonnen waren. Den eingeblasenen Zinnober fand er zuerst in der Rindenschicht, nach 3 Tagen in den Follikulärsträngen.

Ruppert fand schon nach 2–3 Stunden Staub in den Bronchialdrüsen. Arnold wieder wies ihn schon nach 3 Stunden bei Ultramarininhalationen in den an der Aussenseite der Follikel gelegenen Lymphräumen nach und zwar bei nicht tracheotomierten Thieren. An der Innenseite der Follikel zeigte sich nach 6 Stunden Staub, in den Follikelsträngen nach 18 Stunden. Ueber die Mittel des Transportes nach und in den Bronchialdrüsen besteht eine Differenz zwischen ihm und Ins. Er sagt nämlich, dass der Staub in den vasis afferentibus und in den grossen Lymphgefässen des Lungenhilus nicht an Zellen gebunden sei, innerhalb der Follikel dagegen meist in kleine Rundzellen eingeschlossen.

Ein grosser Theil des Staubes wird in den Lymphdrüsen aufgehalten; ob und wie viel in die vasa efferentia hineingelangt, ob ferner eine Umgehung einzelner Lymphdrüsen möglich ist, will Arnold nicht entscheiden. Er selbst konnte in den vasis efferentibus nie Staub nachweisen.

Es wird also kurz zusammengefasst der Staub mit dem Lymphstrom theils frei, theils an Zellen gebunden durch die vasa afferentia den perifollikulären Lymphräumen zugeführt, um von da aus einerseits in die

Follikel, andrerseits in die Follikularstränge vorzudringen. Während der Staub schon frühzeitig in den perifollikulären Lymphräumen auftritt, dringt er langsam in die Follikel und Follikularstränge ein. Aus dem spärlichen Staubgehalte in den centralen Abschnitten der Follikularstränge und Lymphgänge sogar bei langer Inhalation darf man schliessen, dass jede Drüse einen grossen Theil des ihr zugeführten Staubes für sehr lange Zeit zurückzuhalten vermag.

Eine weitere Frage, ob aus dem Lungengewebe oder den Bronchialdrüsen Staub in die Blutbahn übertreten kann, lässt Arnold unentschieden. Für die Art des Eindringens von Staub in die Gefässe der Lunge führt er 3 Möglichkeiten an:

1) könne derselbe begünstigt von einer zeitweisen Aenderung der Druckverhältnisse zwischen Saftkanalsystem und Blutbahn aus den ersteren ohne an Zellen gebunden zu sein, in letztere übertreten.

2) Führt er einen durch Zellen vermittelten Transport an, da eine Einwanderung weisser Blutkörper aus dem Saft- und Lymphgefässsystem in die Blutbahn stattfinden soll. Was

3) die Mikroorganismen betrifft, so ist ihr Eindringen von den Saftbahnen in die Blutbahn Folge fortschreitender Vermehrung und Entwicklung.

Der Nachweis präformierter Bahnen, die aus dem Lungengewebe direct in die Blutbahn führen, ist nach obigem Autor unmöglich.

Bei der Durchlässigkeit der Bronchialdrüsen vergleicht er Staub und Tuberkelbacillen. Für ersteren seien sie wahre Filter, für letztere seien die Verhältnisse anders, weil in Folge Vermehrnng der Bacillen

ein Uebertritt in den ductus thoracicus nicht auszuschliessen wäre. Dass durch Inhalation von tuberculösem Virus allgemeine Tuberculose erzeugt werden könne, beweisen: Koch's Inhalationsversuche mit Tuberkelbacillen.

Hiebei ging er in zweierlei Weise vor; entweder wurde von einer Tracheotomiewunde aus eine Injection in die Bronchien gemacht, oder eine Suspension der Infectionsmasse in Flüssigkeit bereitet und diese zerstäubt. Letztere Art hat den Vorzug, dass sie dem natürlichen Vorgange bei der Einathmung am besten entspricht. Bei der Injection kommen erstens bedeutende Mengen von Tuberkelbacillen in die Lunge, zweitens können leicht gewaltsame Trennungen der Alveolarepithelien entstehen.

Koch verwendete einen geräumigen Kasten mit einer Oeffnung für die Ausmündung des Zerstäubungsapparates; letzerer wurde von einem Zimmer aus in Gang gesetzt, der Behälter mit den Thieren befand sich im Garten.

Die Zerstäubungsflüssigkeit wurde hergestellt, indem man eine Reincultur aus phthisischer Lunge vom Menschen mit destilliertem Wasser verrieb, dann durch Stehen lassen klärte.

Der Einathmung wurden ausgesetzt: 8 Kaninchen, 10 Meerschweinchen, 4 Ratten, 4 Mäuse; es wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen jedesmal während $^1/_2$ Stunde 50 Cubikcentimeter zerstäubt; darauf kamen die Thiere in abgesonderte Käfige. Bei einigen Thieren stellten sich nach 10 Tagen Athembeschwerden ein, dann starben 3 Kaninchen und 4 Meerschweinchen im Laufe von 14—25 Tagen. Alle übrigen Thiere wurden

28 Tage nach der letzten Inhalation getödtet. Die Section ergab Tuberkulose. Die Tuberkelknoten liessen bei einer gewissen Grösse alveoläre Ausbreitung deutlich erkennen. Nach Koch ist die spontane Tuberkulose dieser Thiere fast ausschliesslich Inhalationstuberkulose. Durch Einathmung von anderen pathogenen und nicht pathogenen Bacterien konnte er nie Tuberkulose erzeugen.

Für die Theorie der Passierbarkeit der intacten Lungenoberfläche für pathogene Mikroorganismen sind diese Versuche keine Stütze, da die Tuberkelbacillen in der Alveolarwand selbst sich vermehren können und ihr Durchtritt ins Gewebe dann nur secundär ist. Es galt demnach andere Bacterien zur Einathmung zu verwenden, welche die eben erwähnte Eigenschaft der Tuberkelbacillen nicht haben. Eine weitere Bedingung war die, dass eine Infection vom Darme aus durch sie nicht stattfinden konnte. Denn während die Thiere einathmen, ist es nicht zu verhindern, dass Bacterien in den Verdauungstractus gelangen. Am günstigsten hiezu erwies sich Milzbrand. Mit der Einathmung von Milzbrandsporen hatte sich vor längerer Zeit H. Buchner beschäftigt und die Versuche in modificierter Art im letzten Jahre wieder aufgenommen. In die Zwischenzeit fällt: die Einathmung von Milzbrandbacillen, ausgeführt von Muskatblüth.

Muskatblüth schlug dabei 2 Wege ein.

Er injicierte kleine Mengen (0.2—0.3 cc) stark Milzbrandhaltiger Flüssigkeit den Thieren durch Einstich in die Trachea. Die Thiere tödtete er nach ungefähr 16 Stunden, um eine Infection von Seiten der Injectionswunde ausschliessen zu können. Die mikro-

skopische Untersuchung der Thiere ergab eine reichliche Ablagerung von Milzbrandbacillen in den Alveolarwandungen. Die Stäbchen lagen jedoch nicht frei in denselben, sondern waren in sogenannte Staubzellen, nach Muskatblüth vom Alveolarepithel herstammend, eingeschlossen. In den Staubzellen nun waren sowol Milzbrandbacillen als auch Fäden in ziemlich reichlicher Menge vorhanden. Ausser in den Alveolen fanden sich noch Milzbrandbacillen in den Bronchialdrüsen, die sogar in Schnitten in grosser Menge nachzuweisen waren. Hauptsächlich waren die Lymphbahnen dieser Drüsen mit Stäbchen angefüllt, die Blutbahnen enthielten deren nur wenige. Zur Controle, dass eine Allgemeininfection bereits erfolgt sei, wandte der Experimentator das Plattenculturverfahren an. Stückchen aus Milz und Leber wurden mit Gelatine gemengt und auf Platten ausgegossen; diese zeigten bald die aus ihnen hervorsprossenden charakteristischen Milzbrandcolonien.

Eine zweite Art, in welcher Muskatblüth seine Versuche ausführte, war die, dass er bei seinen Thieren die Tracheotomie machte. Die Wunde liess er zuerst verheilen, ohne Entfernung der Canüle; dann erst nahm er die Injection von Milzbrandflüssigkeit vor. Auf diese Weise konnte er eine Infection von der Wunde aus vollkommen ausschliessen. Die Thiere verendeten nach 40—48 Stunden. Die mikroskopische Untersuchung der Lunge ergab, dass sich Milzbrand hauptsächlich in den Blutbahnen localisierte; einen ähnlichen Befund gaben auch die Bronchialdrüsen, bei welchen in den Lymphbahnen die Stäbchen fast fehlten, die Blutgefässe dagegen damit überladen waren. Indem nun Muskatblüth eine solch grosse Menge

von Milzbrandbacillen auf die Lungenoberfläche brachte, bewirkte er zweierlei: Erstens war ein Durchtreten der Bacterien und zweitens das mikroskopische Aufsuchen derselben erleichtert. Von der Tracheotomie sagt nun Arnold folgendes: An tracheotomierten Thieren angestellte Versuche sind nur mit Einschränkung brauchbar. Von den durch den operativen Eingriff bedingten Veränderungen abgesehen, ist es offenbar nicht gleichgiltig, ob der Staub direct in die Luftröhre, oder auf dem Umwege durch den Nasenrachenraum in diese eintritt; jedenfalls ist die Lunge in dem letzteren Falle vor der Invasion grösserer Staubpartikel und Staubklumpen eher geschützt. Aus diesem Grunde sind auch die Einathmungsversuche von Milzbrandsporen ausgeführt von H. Buchner bei weitem vorzuziehen.

Eine wesentlich andere Methode benützte H. Buchner bei seinen Versuchen. Von einer Injection in die Trachea sah er vollkommen ab. Die Thiere wurden einer freiwilligen Einathmung ausgesetzt. Dass hiebei weniger Sporen auf die Lungenoberfläche gelangten, ist selbstverständlich. Trotz dieser ungünstigen Bedingungen erfolgte Infection.

Die Milzbrandsporen wurden von Reinculturen abgestreift, in sehr wenig Wasser suspendiert und an sterile, möglichst gut stäubende Pulver angetrocknet. Der Staub wurde nun auf folgendes geprüft: erstens auf das Verhältniss der Menge Sporen zu den Pulvertheilchen, zweitens auf seine Infectiosität. Letzteres wurde durch die subcutane Impfung einer Maus constatiert, das erstere durch Plattencultur. Eine kleine Menge Staub wurde in verflüssigter Gelatine ausgesät, diese auf eine Platte ausgegossen. Es wurde hiebei

sowohl die Zahl der Milzbrandcolonien, als auch die der einzelnen Pulvertheilchen bestimmt. Als Staubträger fand anfangs Kohlenstaub, später der Sporenstaub von Lycoperdon giganteum Verwendung. Dieser letztere besitzt den grossen Vorzug, dass die Sporen kugelig und von äusserster Kleinheit sind, infolgedessen sie leicht bis in die Alveolen eindringen. Der Durchmesser einer solchen Spore beträgt nur 4 mikra. Ferner ist eine Verletzung der Alveolenwandung wie sie bei Kohlenstaub leicht vorkommen könnte, vollkommen ausgeschlossen.

Das Ergebniss der Plattenculturen war nun folgendes: Bei Lycoperdonstaub traf auf 140 Lycoperdonsporen 1 Milzbrandspore, bei Kohlenstaub auf 1000 Splitter nur eine einzige. Das letztangegebene Verhältniss ist nicht absolut richtig, da bei der verschiedenen Grösse der Kohlensplitter (einzelne entgehen wegen ihrer Kleinheit dem Auge) eine genaue Zählung nicht möglich ist. War dies nun festgestellt, so fand die Aufbewahrung des Staubes über Chlorcalcium statt, um ihn vollkommen trocken und gut stäubend zu erhalten.

Zur Einathmung kommen 2 Apparate in Anwendung; der eine fasste 3·3 ltr. und war für 5 Mäuse bestimmt, der andere 13·6 ltr. haltend nahm 2 Meerschweinchen auf. Die Apparate bestanden aus einer oben mit Wattepfropf versehenen Glasglocke, die über ein cylindrisches aus Eisendraht geflochtenes Käfig gestülpt war, in diesem befanden sich die Thiere. Das Ganze ruhte auf einem nach unten conisch zulaufenden Blechuntersatze. In den letzteren wurden 0,25 bezw. 0,5 gr. Staub gebracht. Durch den am Halse der

Glocke angebrachten Wattepfropf führte eine Glasröhre bis auf den Grund des Gefässes, an welcher aussen das Gebläse befestigt war. Zerstäubt wurde 10—15 Minuten lang und zwar athmeten die Thiere nur einmal ein.

Den Tag nach dem Versuche war den Thieren durchaus nichts anzumerken, meist verlief auch der nächste ohne Krankheitserscheinungen. In der Nacht vom 2. auf den 3. Tag erlagen die Mäuse fast regelmässig, die Meerschweinchen am 3. bis 5. Tage.

Bis 6. Dezember 1887 ergaben sich folgende Versuchsresultate:

Der Einathmung ausgesetzt:		
Im Ganzen	43	Mäuse
hievon erlagen an Milzbrand	36	„
„ „ „ Pneumonie	5	„
lebend blieben	2	„
ferner im Ganzen	18	Meerschweine
hievon erlagen an Milzbrand	13	„
lebend blieben	5	„

Die Section dieser Thiere ergab meist hellfarbene makroskopisch intacte Lungen; nur in einzelnen Fällen waren stärker injicierte Stellen vorhanden, sowohl an der Oberfläche, wie im Inneren des Organes. Einige Fälle zeigten ausgesprochene Pneumonie; war diese eingetreten, so zeigten die Thiere schon am ersten Tage Krankheitserscheinungen, am zweiten erlagen sie. Mikroskopische Präparate direkt aus Organen ergaben ein negatives Resultat, ebenso Plattenculturen von Lungen- und Milzstückchen. Auf welche Weise die Milzbrandbacterien zu Grunde gingen, lässt sich nicht genau entscheiden; jedenfalls stehen die Reizerschein

ungen bei Pneumonie der Auskeimung und Vermehrung der Milzbrandsporen resp. Bacillen hindernd im Wege.

Um nun dem Einwande zu entgegnen, die Thiere hätten den Staub verschluckt, die Sporen wären im Darmlumen ausgekeimt und von hier sei die Allgemeininfection erfolgt, wurden Controlversuche mit Fütterung angestellt. Hiebei wurden die ungünstigsten Bedingungen gewählt, indem die ganze Menge Staub, welche zur Einathmung verwendet war, auch verfüttert wurde, also ein Beträchtliches mehr als beim Zerstäuben verschluckt werden konnte.

Fütterungsversuche:

Gefüttert im Ganzen	23	Mäuse
hievon erlagen an Milzbrand	3	„
blieben am Leben	20	„
Gefüttert im Ganzen	10	Meerschweine
hievon erlag an Milzbrand	1	„
blieben am Leben	9	„

Bei den an Fütterung erlegenen Meerschweinen war die Stelle, an welcher die Milzbrandbacterien eingedrungen waren durch die starke Haemorrhagie schon makroskopisch gekennzeichnet. Bei den Thieren, welche nach der Einathmung zu Grunde gegangen waren, liess sich nie eine Darmaffection finden; auch Plattenculturen aus Magen- und Darminhalt ergaben stets negatives Resultat. Hiemit war eigentlich der Beweis erbracht, dass die Infection vom Darme aus nicht stattfinden könne, nun galt es aber die Lungeninfection zu beweisen. Aus diesem Grunde wurden Thiere zu verschiedenen Zeiten nach der Einathmung mittelst Chloroform getödtet. Lunge und Milz

wurden mit sterilen Scheeren und Pincetten herausgenommen, in feine Stückchen zerschnitten und mit Gelatine auf Platten ausgegossen. Eine Hälfte der Lunge wurde behufs Untersuchung mit Schnitten in Alkohol aufbewahrt. Die Zeit, innerhalb welcher die Thiere getödtet wurden, erstreckte sich von $5^1/_2$ bis auf 46 Stunden nach Ausführung des Versuches. Am zweiten Tage nach Anfertigung der Plattenculturen sah man aus einigen beziehungsweise mehreren Lungenstückchen Milzbrandcolonien hervorwachsen; die Milzstückchen waren fast stets frei von denselben; ausser den hervorwachsenden fanden sich auch noch einige freie Colonien. Als Durchschnittszahlen ergaben sich auf

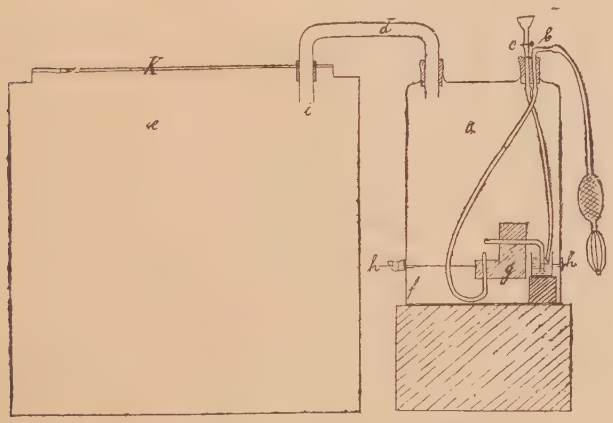
16.3 inficierte Lungenstückchen 5.6 freie sterile
1.0 „ Milzstückchen 12.9 „ „

Die Lunge war also früher ergriffen als die Milz; dies ist nun aber auch bei subcutaner Infection manchmal der Fall; daher wurden zu gleicher Zeit Einathmungs- und Impfversuche vorgenommen und die Thiere 5—6 Stunden nach Anstellung des Versuches getödtet. Plattenculturen aus Milz und Lunge ergaben bei den inficierten Thieren negatives Resultat; bei den Einathmungsthieren sprossten aus ungefähr der Hälfte der Lungenstückchen Milzbrandcolonien hervor, die Milzstückchen blieben steril.

Ausser diesen Versuchen hatte H. Buchner auch einmal eine Zerstäubung auf nassem Wege vorgenommen; die Thiere waren dabei direkt dem Spray ausgesetzt gewesen; eine vollständige Durchnässung derselben war die Folge; Resultate wurden dabei nicht erzielt. Nun hatte H. Buchner von anderen Arbeiten her einen sogenannten indirecten Spray und mit diesem

wurden die später anzuführenden Einathmungsversuche unter seiner speciellen Leitung angestellt.

Der Apparat besteht aus 2 Behältern, die durch ein Rohr miteinander verbunden sind. Der erste Behälter ist eine Glasglocke a, oben mit 2 Oeffnungen; die eine nimmt das Gebläse b und ein Zuführungsrohr c auf, die andere die Leitung d in den zweiten Behälter e. Am Boden der Flasche, die auf einem Blechgefässe f ruht, ist ein Spray g aufgestellt, der beliebig lang in Gang gesetzt werden kann. Glocke und Blechgefäss sind durch Anlegen eines Gummiringes h möglichst dicht mit einander verbunden. Die Glocke a ist wie schon oben erwähnt durch eine Glas-



röhre d mit einem weiteren Behälter e verbunden. Es ist dies ein cylindrischer Blechkessel von 39 cm Durchmesser und 41 cm Höhe. 6 cm oberhalb des Bodens ist ein zweiter aus Eisendraht geflochtener Boden angebracht, oben dient als Verschluss eine gut in Blechrahmen eingekittete Glasplatte k, neben welcher eine

Oeffnung für das Communicationsrohr d ist. In diesem Raume befanden sich die Versuchsthiere, die Mäuse direct unter der Mündung der Verbindungsröhre i in einem Glasgefässe; Meerschweinchen und Kaninchen waren frei. Um nach Aussen einen guten Abschluss zu erhalten, wurde nach Auflegung des Deckels noch Watte in Streifen um denselben herumgelegt und mit Flanellbinden befestigt. Luft kann auf diese Weise noch durchpassieren, Bacterien dagegen werden von der Watte aufgefangen und zurückgehalten. Nach jedem Versuche wurde die Watte sterilisiert, die Binden kamen zuerst in Sublimat 1 pro mille, dann in Brunnenwasser zum Ausspülen.

Setzt man nun den Apparat unter Weglassung des Behälters (e) für die Thiere in Gang, so sieht man bald die Wände der Glasglocke mit Wassertröpfchen beschlagen, aus der Verbindungsröhre aber bei i, günstige Beleuchtung vorausgesetzt, eine feine, leicht bewegliche Wolke hervorkommen. Ob diese Wolke aus Wasserbläschen oder Tröpfchen bestehe, liess sich beim Auffangen und sofortigem Betrachten unter dem Mikroskope nicht entscheiden. Der Beweis, dass durch die Röhre in Flüssigkeiten suspendierte Bacterien hindurchgehen, wurde in folgender Weise erbracht: Statt des Kessels e nahm H. Buchner eine Glasglocke, unter welche Gelatineplatten aufgestellt waren. Zerstäubt wurden mehrere Bacterienarten, Milzbrandsporen, Vibrio Cholera, Typhus und Heubacillen. Nach dem Versuche war an den Platten absolut nichts wahrzunehmen, als sie jedoch nach der Aufbewahrung im Brutkasten (22° C.) angesehen wurden, zeigte sich reichlichste Colonienentwicklung der zerstäubten Art.

Um eine Vorstellung zu bekommen, wie viel von der zerstäubten Flüssigkeit durch die Verbindungsröhre in den Kessel komme und beim Thierexperimente wirke, wurde folgender Versuch gemacht:

Ein Becherglas wurde mit Watte und hydrophiler Gaze gefüllt und gewogen. In dasselbe hinein kam das freie Ende (i) der Verbindungsröhre (d). Das Glas des Zerstäubungsapparates enthielt eine bestimmte Menge Flüssigkeit; nach Feststellung dieser Einzelheiten wurde der Spray in Gang gesetzt, bis möglichst viel Flüssigkeit zerstäubt war. Nun wurde der im Glase befindliche Rest gemessen, die zerstäubte Menge berechnet, das Becherglas gewogen und die Gewichtszunahmen bestimmt. Aus letzterer und dem zerstäubten Volumen liessen sich als Uebergangsmenge 0.6% feststellen; in welcher Richtung dieses Ergebniss verwerthet wurde, soll später ausgeführt werden.

Die Milzbrandsporen zur Zerstäubung wurden auf folgende Weise gewonnen. Eine Maus impfte man mit Milzbrand; diese erlag meist in der Nacht vom 2. zum 3. Tage; die Milz dieses Thieres brachte man mit sterilen Instrumenten in eine sterile Schaale, zerdrückte sie und strich mit einer Drahtöse einen Theil davon auf einer Fleisch-Wasser-Agarröhre (Fl. W. Ag.) auf. Am folgenden Tage konnte man bereits an den Milzbrandfäden Sporenbildung wahrnehmen; am 2. oder 3. Tage waren die Sporen fast sämmtlich ausgetreten. Den Röhrenbelag schabte man mit einer grossen Drahtöse ab und suspendierte ihn in destilliertem Wasser, meist 45—50 cc. Die genaueren Zahlenangaben sind bei den einzelnen Versuchen aufgeführt.

Die Vortheile der feuchten Zerstäubung scheinen mir folgende zu sein:

a) Man kann die Sporen direct von der Cultur weg verwenden, es ist keine Antrocknung an einen Infectionsträger notwendig. Die Infectionskeime sind in Folge dessen auch virulenter. Ferner ist die Aufbewahrungsart eine einfachere, das Aufheben über Chlorcalcium fällt weg.

b) Bei der Anwendung des Kohlenpulvers konnten leicht spitze Theile in die Alveolen gelangen, dort eine Verletzung bewirken und so das sichere Resultat gefährden.

c) Bei Lycoperdon-Pulver stellte sich leicht Pneumonie ein, sobald zu viel Staub genommen wurde; man stand zwischen zwei Klippen; entweder nahm man zu wenig, dann war die Infection in Frage gestellt, oder zu viel, dann trat die oben erwähnte Lungenaffection ein.

d) Konnten die Thiere selbst den Versuch scheitern machen, durch Absonderung von Urin, wodurch die frühere Trockenheit des Staubes illussorisch gemacht wurde.

e) Die Menge der eingeathmeten Sporen war leicht nach entsprechender Verdünnung mittelst Gelatineplattenculturen zu bestimmen, wie dies 9 I 88 bei der 5. nassen Zerstäubung geschah.

f) Ist die Zerstäubungsflüssigkeit für solche, welche etwa die Versuche controlieren wollen, leicht herzustellen, und bietet noch die Annehmlichkeit der geringeren Gefahr für den Experimentator, gegenüber Kohlen- und Lycoperdonstaub.

Bei der Section der an Inhalationsmilzbrand erlegenen Thiere wurde vor allem auf das makroskopische

Aussehen der Lunge geachtet, auf eventuell vorhandene Hämorrhagien. Ferner wurde der Verdauungstractus genau durchsucht, um eine Infection von hier aus mit Sicherheit ausschliessen zu können. Mikroskopische Präparate wurden von Milz und Lunge angefertigt, nach einer Methode die von physiologischer Seite empfohlen war. Auf einen frischen Schnitt durch das zu untersuchende Organ, wurde ein Deckgläschen aufgepresst und dann sofort in eine 5% Sublimatlösung schwimmend gebracht; hierin wurde es 2 Minuten belassen, mit Wasser abgespült, mit Carbolfuchsin gefärbt, abgespült, getrocknet und in Nelkenöl gebracht. Der Vortheil dieser Anfertigung der Praeparate ist der, dass die unschönen Schrumpfungen, wie sie bei sofortiger Trocknung vorkommen, vermieden werden. Die weissen und roten Blutkörperchen behalten ihre normale Form, letztere sogar ihre natürliche Farbe. Man konnte nun auch hier einwenden, die Thiere seien nicht durch Einathmung der Sporen, sondern durch Verschlucken derselben und folgende Infection vom Darme aus zu Grunde gegangen. Aus diesem Grunde wurden Controlversuche mit Fütterung angestellt. Wie schon erwähnt, wurde früher die ganze Menge Staub, welche zur Einathmung kam, auch zur Fütterung genommen. Bei den folgenden Versuchen zog man die durch Berechnung gefundene Uebergangsmenge in Betracht Es wurden von der Flüssigkeit, die zerstäubt wurde, gleich 0.6 % weg genommen und dem zu verfütternden Brei beigemengt. Für Mäuse bestand dieser aus aufgeweichten, dann gut ausgedrückten Semmeln mit etwas Zucker. Meerschweinchen bekamen meist feingeschabte gelbe Rüben,

gemischt mit den Sporen. Ausser diesem Brei, der im Fütterungsraume möglichst geschützt vor Verunreinigung und Zerstreuen durch die Thiere angebracht war, wurde keine Nahrung gereicht. In der Regel war über Nacht alles aufgefressen, dann kamen die Thiere in einen gesonderten Stall. Obwohl auch hierzu viel gefüttert wurde, 0.6 % der zerstäubten Flüssigkeit wurden auf keinen Fall verschluckt, waren die Resultate doch gut, wie aus den später aufgeführten Versuchen hervorgeht.

Versuche mit Zerstäubung auf nassem Wege mit Milzbrandsporen.

1) Tag des Versuches: 8. Dezember 1887. Die dabei in Anwendung gekommenen Thiere waren zwei Meerschweinchen. Die Anordnung war folgende: Oben erwähnte Thiere wurden in den Kessel frei hineingebracht, zur Zerstäubung der indirecte Spray genommen. Darstellung der Zerstäubungsflüssigkeit: Auf 4 Fl. W. Ag. Röhren waren Milzbrandsporen herangezüchtet worden, diese wurden mit einer sterilen Drahtöse abgestreift und in 75 cubcm. destillierten Wassers gelöst, nach möglichst feinem Zerreiben der Flocken; von dieser Flüssigkeitsmenge wurden 12 cubcm. innerhalb 10 Minuten zerstäubt. Resultat: An den folgenden 2 Tagen waren an den Thieren keine Krankheitserscheinungen zu bemerken, dann verloren sie etwas von ihrer Munterkeit, $3^1/_2$ Tage nach der Einathmung waren beide todt.

Section: Bei dem einen Thiere waren die Lungen vollkommen normal; bei dem zweiten zeigten sich einige rothfleckige Parthien auf denselben von ganz

geringer Grösse. Der Darmkanal erwies sich in beiden Fällen als vollkommen intact.

Die mittelst Sublimatmethode angefertigten mikroskopischen Präparate aus Milz und Lunge, ergaben reichlich vorhandene Milzbrandbacillen.

2) Zerstäubung auf nassem Wege, 20. December 1887. In Anwendung kam derselbe Apparat wie bei 1. Es athmeten 6 mittelgrosse Meerschweinchen ein α, β, γ, δ, ε, ζ.

Die Zerstäubungsflüssigkeit wurde bereitet: Mittelst steriler Instrumente waren bei der Section der letzten Meerschweinchen 2 Fl. W.Ag. Röhren durch Aufstreichen von Milzstückchen mit Milzbrandbacillen beschickt worden. Die mikroskopische Untersuchung nach einigen Tagen ergab, dass Sporenbildung aufgetreten sei. Die Sporen wurden von den zwei Röhren abgestreift und gut vertheilt in 50 cubcm. destillierten Wassers suspendiert. Von dieser Suspension wurden 20. December 1887 Nachmittags 4 Uhr 42 cubcm. zerstäubt.

Resultat: Am folgenden Tage waren alle Thiere noch munter; 22. December 1887 wurden die Thiere ruhiger. Nachmittag 4 Uhr erlag α, also 48 Stunden nach der Einathmung. Während die Section des Thieres vorgenommen wurde, erlag auch β. In der Nacht vom 22. auf 23. December gingen noch γ, δ, ε, ζ zu Grunde, also etwa 60 Stunden nach Anstellung des Versuches. Section: Die Lungen zeigten bei sämmtlichen Meerschweinchen keine pathologischen Veränderungen, die Farbe war gehörig, keine Haemorrhagien vorhanden. Der Darmkanal war intact.

Die mikroskopische Untersuchung ergab Milzbrand.

3. Fütterungsversuch 21. December 1887 galt als

Controle zu Versuch 2. Hierzu nahm man 4 Meerschweinchen, α, β, γ, δ, die sämmtlich ausgewachsen waren.

Bereitung des Fütterungsbreies: Von 4 mit Milzbrandmilzen bestrichenen Fl.W.Ag. Röhren, auf welchen Milzbrandsporen sich gebildet hatten, werden diese abgestreift und in 50 cubcm. destillierten Wassers suspendiert. Dann werden gelbe Rüben fein geschabt und mit dem erhaltenen Brei obige Flüssigkeit innig vermengt. Während der Nacht vom 21. auf 22. Dec. frassen die Thiere alles auf. Die nächsten 3 Tage vergingen, ohne dass man den Meerschweinchen etwas angemerkt hätte. In der Nacht vom 25. auf 26. Dec., also vom 4. auf den 5. Tag erlagen α, β, γ.

Section von α: Die Lungen zeigen inclusive Oberlappen diffuse Röthung und einige diffuse dunkelrothe Parthien. Der Befund des Darmrohres ergiebt nirgends Haemorrhagien, wohl aber mehrfache stärkere Injection. Die mikroskopische Untersuchung von der Lunge zeigt reichliche Milzbrandbacillen, ebenso fanden sich im Dünndarminhalte reichliche Milzbrandstäbchen.

Vom Darminhalte wurde eine Plattencultur (Fl.W.P.G) angefertigt; auf dieser wuchsen sehr reichliche Milzbrandcolonien, nur sehr wenig andere Colonien. Bei β und γ war der Sections- und mikroskopische Befund derselbe wie bei α. Das Thier δ blieb am Leben. Dieser ungünstige Erfolg erklärt sich aus folgendem: In den Kessel waren nach der früheren Berechnung bei der Zerstäubung 0.3 cubcm. hinübergekommen; diese hatten sich auf 6 Thiere vertheilt, trafen auf jedes 0.05 cubcm.; davon wurde der grössere Theil eingeathmet: nur ein ganz kleines

Quantum verschluckt. Verfüttert wurden 50 cubcm. an 4 Meerschweinchen, jedes bekam also 12.5 cubcm., eine 250 mal grössere Menge (Respirationstractus nicht gerechnet) als überhaupt verschluckt werden konnte. Zieht man die Einathmungsmenge noch mit in Betracht, so wird sich die Zahl mindestens verdoppeln.

4. Zerstäubung auf nassem Wege, 2. Januar 1888. 6 mittelgrosse Meerschweinchen kamen in den Einathmungsapparat und wurden dem indirecten Spray ausgesetzt. Die Zerstäubungsflüssigkeit gewann man durch Suspension, einer auf die übliche Weise gezüchteten Sporencultur aus einer Meerschweinchenmilz. Von der Cultur, die als sehr rein zu bezeichnen war, wurde nur so viel in 60 cubcm. aqua destillata suspendiert, dass eine ganz schwache Opalescenz entstand. Zerstäubt wurde 2. Januar 1888 Nachmittag 4 Uhr $^1/_2$ Stunde lang und zwar im Ganzen 42 cubcm.

2 Meerschweinchen erlagen am 3. Tage
1 desgl. erlag „ 5. „

Section: Die Lungen der 3 verendeten Meerschweinchen zeigten keine Haemorrhagien, waren aber mit einzelnen roten Flecken bedeckt, wie gewöhnlich nur locale Hyperämien. Der Intestinaltractus war frei von jeder Affection. Mikroskopische Präparate aus Lunge und Milz ergaben zahlreiche Milzbrandstäbchen.

3 Meerschweinchen blieben am Leben.

5. Zerstäubung auf nassem Wege, 9. Januar 1888. In dem Kessel wurden 6 mittelgrosse Meerschweinchen und ein mittleres Kaninchen der Einathmung ausgesetzt, ebenfalls unter Einwirkung des indirecten Sprays.

Darstellung der Zerstäubungsflüssigkeit: Eine Meer-

schweinchenmilz, die Milzbrandstäbchen enthielt, war auf Fl. W. Ag. aufgestrichen worden und hatte eine sehr reine Sporencultur ergeben. Hievon wurden etwa $^2/_3$ genommen und in 50 cubcm. aqua destillata vertheilt; die Flüssigkeit hatte ein trübliches Aussehen. Der Sporengehalt dieser Suspension wurde durch Plattencultur ermittelt. 1 cubcm. der Aufschwemmung in 100 cubcm. sterilem Wasser = 100 mal verdünnt, hievon 1 cubcm. in 100 cubcm. sterilen Wassers = 10000 mal verdünnt. Von der letzten Verdünnung werden je 4 cubmill. (eine Normalöse) mit verflüssigter Fl. W. P. G. gemischt und 2 Plattenculturen angelegt. Auf diesen entwickeln sich durchschnittlich je 10 Milzbrandcolonien. Somit enthalten 4 cubikmill. der ursprünglichen Sporensuspension 100 000 Milzbrandsporen, oder 1 cubcm. enthält 25 Millionen. Von dieser Suspension wurden 9. Januar 1888, Nachmittags während $^3/_4$ Stunden 42 cubcm. zerstäubt.

10. Januar 1888 wird das Kaninchen morgens todt aufgefunden, ca. 36 Stunden nach der Einathmung verendet.

Bei der Section ergaben die Lungen ausser einigen roten Flecken keinen pathologischen Befund. Darm intact.

Mikroskopisch fand man in Lunge und Milz zahlreiche Milzbrandbacillen.

Nachmittags, 10. Januar 1888, waren 2 Meerschweinchen todt, nach ca. 46 Stunden.

Section: Die Lungen frisch rot, ohne Flecken, Darmtractus frei von Affection; die mikroskopischen Präparate zeigten Milzbrand. 12. Januar 1888 war Morgens ein weiteres Meerschweinchen erlegen ca.

60 Stunden nach der Einathmung. Die Section ergab makroskopisch keinen abnormen Befund, mikroskopisch Milzbrand.

Am selben Tage Mittags 12 Uhr verendete das 4. Meerschweinchen, welches kurz zuvor noch munter gewesen war, also 68 Stunden nach Anstellung des Versuches.

Die Section zeigte intacte Lungen, intacten Darmtractus, das gefärbte mikroskopische Präparat Milzbrand.

Nachmittags, 12. Januar 1888 erliegt das 5. Meerschweinchen, ebenfalls kurze Zeit vorher noch munter, 71 Stunden.

Die Section hatte dasselbe Ergebniss wie bei dem vorhergehenden. Ebenso war die des letzten Thieres, welches ca. 80 Stunden nach der Zerstäubung todt aufgefunden wurde.

6) Fütterungsversuch, 9. Januar 1888 als Controle zu Einathmung 5. Es kamen dabei 5 Meerschweine und 1 Kaninchen in Anwendung. Von der Aufschwemmung, welche zur Einathmung bei dem vorhergehenden Versuche gedient hatte, wird 1 %, d. h. pro Thier 0.06 cubcm. = 1 Tropfen verwendet.

Für das Kaninchen wurde etwas Semmel eingeweicht, ausgedrückt, mit pulvis liquiritiae bestreut und der eine Tropfen der Flüssigkeit beigemengt. Hieraus wurde eine Pille von mittlerer Grösse angefertigt und dem Kaninchen eingeschoben.

Die Meerschweinchen erhielten einen Rübenbrei, dem 5 Tropfen der Aufschwemmung zugesetzt waren. In der Nacht vom 9. auf 10. Januar 1888 hatten die Thiere bis auf ganz geringe Spuren alles aufgezehrt.

Während der folgenden Tage waren die Thiere

sämmtlich munter; 17. Januar 1888 konnte der Versuch als beendet angesehen werden.

Resultat: Alle Thiere blieben am Leben.

7) Zerstäubung auf nassem Wege, 10. Januar 188?. Bei den früheren Versuchen blieben die Thiere nach der Einathmung ihrem Schicksale überlassen. Diesmal galt es aber einen sicheren Beweis des Eindringens der Sporen, resp. Bacillen von der Lungenoberfläche zu erbringen. Plattenculturen waren von Lunge und Milz schon früher angelegt worden. Es sprossten auch Milzbrandcolonien aus den meisten Stückchen der Lunge hervor, die Milzstückchen blieben fast in allen Fällen steril. So schön dieser Erfolg war, konnte man doch einwenden, Milzbrandsporen seien in den gröberen Bronchien frei dagelegen und in der Gelatine ausgekeimt. Bei den kleineren Thieren, wie Mäusen und Meerschweinchen war eben eine Entfernung der Bronchien unmöglich. Es blieb demnach nur der eine Weg offen, das Eindringen der ausgekeimten Stäbchen in Schnitten nachzuweisen. Aus diesem Grunde war bei den nach der Einathmung getödteten Thieren nur eine Lungenhälfte zur Aussaat genommen worden, die andere wurde in Alkohol gelegt, gehärtet und geschnitten. Die grösste Schwierigkeit lag darin, den richtigen Zeitpunkt zur Tödtung herauszufinden. Trotz Durchmusterung vieler Schnitte war im Laboratorium nur ein Präparat gewonnen worden, welches beweisend war. Hindernd war nämlich dabei der Staubträger; bei wenig Staub war keine Aussicht etwas zu finden, bei viel trat Pneumonie störend ein. Bei Verwendung des indirecten Sprays hingegen waren der Sporenmenge keine Schranken gesetzt.

Es wurden 2 kleine Meerschweinchen in dem gebräuchlichen Apparate der Einathmung ausgesetzt. Die Suspension war bereitet aus Sporen von 4 Fl. W. Ag. Röhren, auf welche eine Milzbrandmilz eines Meerschweinchens aufgestrichen war. Die Flüssigkeit sah dicht trüb aus. Von ihr wurden 10. I. 88, Nachmittags 4 Uhr während $^1/_2$ Stunde 42 cubcm. zerstäubt, mit stark gehenden Spray.

Behufs mikroskopischer Untersuchung wurde vorzeitige Tödtung der Thiere vorgenommen.

11. I. 88 wird α mit Chloroform getödtet nach 19 Stunden, β nach 23.5 Stunden.

Von beiden Meerschweinchen wurde die linke Lunge in Alkohol gelegt; von der rechten Lunge wurde aus Ober-, Mittel- und Unterlappen je ein Stück herausgenommen, in 2 Gelatineröhren vertheilt und auf 2 Platten ausgegossen. Die Milzen wurden vollkommen zerstückelt und auf je 2 Platten ausgegossen.

Nach 2 Tagen wurden die Platten betrachtet und es ergab sich dabei untenstehendes gutes Resultat.

	Zahl der inficierten Lungenstücke	Sterile Lungenstücke	Milzbrandcolonien		Zahl der Milzstücke	Zahl der sterilen Milzstücke
			aus Stückchen	freie M C		
Meerschweinchen α	56	0	195	340	39	39
Meerschweinchen β	67	4	186	890	38	38

Während auf den Milzplatten keine einzige Milzbrandcolonie zu bemerken war, waren die Lungenplatten ganz damit übersät. Dieser günstige Erfolg versprach auch für die Schnitte gute Aussichten. In

der That wurden in den bis jetzt untersuchten einzelne Bacillen öfter gesehen, einmal auch eine grössere Anzahl eindringender und im Gewebe sich schon befindender Bacillen.

Die bisherigen Versuche waren alle mit Milzbrandsporen angestellt worden; nun ging man daran, die gleichen Erfolge mit Stäbchen anzustreben. Trat das gewünschte Resultat ein, so war es ein bedeutender Fortschritt: Milzbrandbacillen sind ja nach vielen Versuchen nicht im Stande, vom Darme aus zu inficieren. Es wurden 2 Mäuse subcutan mit Milzbrand geimpft. Diese erlagen nach der gewöhnlichen Zeit. Die Milzen wurden in sterilen Schaalen zerdrückt, mit sterilem Wasser gemengt und in eine Fleischextractlösung gebracht, der 0.1 % Pepton zugesetzt war. Das Gefäss mit der Cultur befand sich in einem Wasserbade bei 37—39° C. Während der Nacht wurde durch die Flüssigkeit mit der Wasserstrahlluftpumpe filtrierte Luft hindurchgeleitet. Dies alles geschah, um Vermehrung der Bacterien zu erzielen, Fäden und Sporenbildung dagegen zu verhindern. Sowohl das getrübte Aussehen der Flüssigkeit am anderen Tage, als auch das mikroskopische Präparat, zeigten die Vermehrung der Stäbchen.

8) 4. II. 88 wurden Vormittags 11 Uhr während $^5/_4$ Stunden 100 cubcm. der Flüssigkeit zerstäubt.

In dem Kessel befanden sich: 1 Kaninchen, 2 kleine, drei ausgewachsene Meerschweinchen α, β, γ, δ, ε.

5. II. 88 waren die Thiere munter.

6. II. 88 früh (ca. 42 Stunden nach dem Versuche) wurden α, β, δ todt aufgefunden, die 2 noch lebenden

Meerschweinchen und das Kaninchen waren etwas ruhig.

Die Section ergab dunkel gefärbte, hepatisirte Lungen, die in Wasser untersanken. Nur an wenigen Stellen war hellrotes Gewebe. Die Milz war in allen 3 Fällen nicht vergrössert, von gewöhnlicher Farbe. Präparate aus den Lungen ergaben reichlich Milzbrand, zum grossen Theile Fäden. In der Milz waren nur wenige Milzbrandbacterien.

6. II. 88 Nachmittags (ca. 52 Std.) erlagen ♂, ε. Die Section ergab makroskopisch dasselbe Bild, wie bei den vorhergehenden. Mikroskopisch war bei Meerschweinchen ♂ in der Lunge wenig, in der Milz viel, bei ε in der Lunge viel und in der Milz wenig Milzbrand zu finden. In Wasser geworfene Lungenstückchen sanken unter.

Das Kaninchen erholte sich wieder und zeigte weiters keine Krankheitserscheinungen.

Um noch eine andere Bacterienart zu haben, welche bei Einathmung Allgemeininfection bewirken könne, wurde zur Hühnercholera gegriffen; diese ergab die folgenden guten Resultate:

9. Zerstäubung mit Hühnercholera 30. XII. 87. Man bediente sich desselben Apparates, wie zur Zerstäubung der Milzbrandsporen. In den Kessel kamen 1 mittelgrosses gesundes Kaninchen und 7 ausgewachsene Mäuse. Letztere wurden in ein offenes Glas gebracht und dieses so gestellt, dass der Spray gerade auf seinen Rand traf. So durfte man annehmen, dass die eine Hälfte der in den Kessel kommenden Bacterien das Kaninchen, die andere die Mäuse treffe.

Die Zerstäubungsflüssigkeit wurde bereitet, indem

von einer Hühnercholera Cultur auf Fleisch Wasser Pepton Glycerin Agar (Fl W P Gl Ag) secundär aus der Leber einer Maus 1 Drahtspitze in 20 cubcm destillierten Wassers suspendiert wurde. Nachdem gut gemischt war, zeigte sich nur ganz schwache Opalescenz, so dass kaum ein Unterschied von Wasser zu bemerken war.

30. XII. 87 Nachmittag 4 Uhr wurde die Suspension während $^1/_2$ Stunde zerstäubt.

Resultat: Am folgenden Tage waren die Thiere ganz munter.

1. I. 88 waren 3 Mäuse todt (ca. 36 Stunden nach der Einathmung).

2. I. 88 erlag das Kaninchen und 1 Maus ca. 60 Stunden.

Section: Die Lungen waren bei allen Thieren von gehöriger Farbe, der Darm frei von Injection.

Mikroskopisch fand man in der Leber der Erlegenen theils Kurzstäbchen, theils Doppelkugeln, Einzelkugeln und Ovalformen in ziemlicher Menge.

Aus einer Leber wurde mittelst steriler Instrumente auf einer Gl. W. P. Fl. Ag. Röhre eine neue Cultur angelegt. Es blieben somit 3 Mäuse am Leben.

10. Zerstäubung auf nassem Wege mit Hühnercholera, 8. I. 88.

Von Thieren nahm man 7 ausgewachsene Mäuse und 1 grosses kräftiges Kaninchen. Das letztere befand sich frei im Behälter, die Mäuse wieder im gesonderten offenen Glase, dessen Rand der indirecte Spray traf.

8. I. 88 Vormittag 11 Uhr wurden innerhalb $^1/_2$ Stunde 12 cubcm. von einer Flüssigkeit zerstäubt,

die gewonnen war, indem man von einer Hühnercholera Cultur, direct aus der Leber einer Maus auf Fl. W. P. Gl. Ag. gezüchtet, 3 Drahtspitzen in 20 cubcm. destillierten Wassers vertheilte.

Die Aufschwemmung war schwach opalescierend, doch etwas stärker als im Versuche 9.

9. I. 88 waren die Thiere gesund, 10. I. zeigte eine Maus Krankheitserscheinungen, die sich durch ruhiges Herumsitzen, Sträuben des Pelzes und bedeutend beschleunigte Respiration kund gaben. Dieses Thier erlag der Infection am 11. I. 88.

Die Section ergab normalen Lungen- und Darmbefund, in der Leber Hühnercholera-Bacillen.

Die übrigen Mäuse waren an diesem Tage etwas kränklich, das Kaninchen zeigte kein abnormes Verhalten.

Resultat: 6 Mäuse und das Kaninchen blieben lebend.

11. Fütterungsversuch mit Hühnercholera 8. I. 88. Als Controle zu 10.

Zum Versuche wurden 7 Mäuse und 1 grosses Kaninchen genommen. Es wurde von der nämlichen Aufschwemmung, von welcher bei der Inhalation 12 cubcm. verbraucht worden waren, $1\% = 0.12$ cubcm. zur Fütterung verwendet.

Für das Kaninchen wurde aus Semmelbrei und pulvis liquiritiae, dem 0.06 cubcm. beigemengt waren, eine Pille angefertigt und diese eingeschoben.

Den Mäusen wurde ein Brei bereitet aus Semmeln und pulvis liquiritiae, zu dem ebenfalls 0.06 cubcm. Aufschwemmung hinzugefügt waren. Ueber Nacht

zehrten diese Alles auf und erhielten dann ihre gewöhnliche Nahrung wieder.

Am 7. I. 88 konnte der Versuch als beendigt angesehen werden und ergab das Resultat, dass er für sämmtliche Thiere ohne Nachtheil gewesen war. Schon am 12. I. 88 wurden sie einer nochmaligen Fütterung unter denselben Bedingungen unterzogen. Auch diese wurde von ihnen ohne jede bemerkbare Erkrankung überstanden.

12. Zerstäubung auf nassem Wege mit Hühnercholera, 12. I. 88.

Es wurden hierbei 8 Mäuse und 1 grosses Kaninchen in dem gewönlichen Apparate dem indirecten Spray ausgesetzt. Das Kaninchen und 6 Mäuse hatten bereits einmal eine Einathmung überstanden. Letztere und die 2 neu dazu gekommenen befanden sich in einem gesonderten Glase unter denselben Bedingungen wie früher.

Eine Hühnercholera-Cultur war auf Fl. W. P. Gl. Ag. direct aus der Leber einer Maus angelegt worden. 24 Stunden nach Beschickung der Röhrchens zeigte das mikroskopische Präparat normale Wuchsformen und Reinheit der Cultur. Von ihr wurden nun 3 grosse Drahtspitzen in 36 cubcm. destillierten Wassers suspendiert, so dass die Flüssigkeit schwach trüblich erschien, doch etwas stärker als beim Versuche 10. Von dieser Suspension wurde 12. I. 88 innerhalb $^1/_2$ Stunde auf bis einen kleinen Rest alles zerstäubt.

13. I. 88 waren Nachmittags die meisten Mäuse elend. Eine davon, die besonders krank erschien, wurde mit Chloroform getödtet und dann seciert.

Die Section ergab makroskopisch keinen patho-

logischen Befund, die Sublimatpräparate zeigten Hühnercholera-Bacillen in ziemlicher Menge: eine von der Leber des Thieres angelegte Cultur enthielt diese ebenfalls.

14. I. 88 waren nach ca. 36 Stunden morgens die 6 übrigen Mäuse erlegen.

Die Organe zeigten keine wahrnehmbare Veränderung, in der Leber befanden sich Hühnercholera-Bacillen.

Das Kaninchen zeigte keine Spur von Erkrankung.

13. Fütterungsversuch mit Hühnercholera, 12. I. 88, als Controle zu Versuch 12.

Der Bruch eines Glasrohres am indirecten Spray hatte bei der Wiederherstellung eine kleine Modification derselben herbeigeführt Nach dieser ging in den Thierbehälter wie eine neue Bestimmung nach der früher angeführten Methode zeigte 1 % über. In Folge dessen wurden von der nämlichen Aufschwemmung, die beim vorhergehenden Versuche gedient hatte, 0.24 cubcm. = $^2/_3$ % dem Fressen der Thiere beigemengt.

Ein Kaninchen erhielt 12. I. 88 eine Pille aus Semmelbrei, pulv. liqu. und 2 Tropfen Flüssigkeit = 0.12 cubcm. eingeschoben. An 7 ausgewachsene Mäuse wurde ein Semmelbrei verfüttert, dem 2 Tropfen = 0.12 cubcm. der Aufschwemmung beigegeben waren.

Die Thiere hatten alle schon einmal zu dem Versuche 11 resultatlos gedient.

Am 7. I. 88. war festzustellen, dass alle Thiere ohne im geringsten gekränkelt zu haben den Versuch überstanden, wie früher schon erwähnt wurde.

Wenn man nun die Resultate der feuchten Zer-

stäubung mit Milzbrand zusammenfasst, so ergeben sich folgende Resultate:

Eingeathmet im Ganzen	25	Meerschweine.
Hievon erlagen an Milzbrand . .	22	„
Blieben am Leben	3	„
Ferner athmeten ein	2	Kaninchen.
Erlag an Milzbrand	1	„
Blieb am Leben	1	„

Das Ergebniss der Fütterung:

Gefüttert im Ganzen	9	Meerschweine.
Hievon erlagen an Milzbrand . .	3	„
Blieben am Leben	6	„
Ferner gefüttert	1	Kaninchen.
Blieb am Leben	1	„

Die Erfolge bei Hühnercholera sind:

Eingeathmet im Ganzen	22	Mäuse.
Hievon erlagen an Hühnercholera .	13	„
Am Leben blieben	9	„
Ferner eingeathmet	3	
Hievon erlag an Hühnercholera .	1	
Am Leben blieben	2	
Gefüttert im Ganzen	14	Mäuse.
Hievon blieben am Leben . . .	14	„
Ferner gefüttert	2	Kaninchen.
Blieben am Leben	2	„
Eingeathmet im Ganzen	52	Thiere.
Hievon erlagen an Milzbrand und Hühnercholera	37 = 71.15 %	
Blieben lebend.	15 = 28.84 %	
Gefüttert wurden im Ganzen. . . .	26.	
Hievon erlagen	3 = 11.5 %	
Blieben lebend.	23 = 88.5 %	

Die Anzahl der Versuche mit Zerstäubung auf nassem Wege ist allerdings nicht bedeutend; sie sollen auch nur eine Ergänzung zu denen mit trockenen Staubträgern sein und mit ihnen die Behauptung vertreten, dass pathogene Bacterien von den Alveolen aus in das Lungengewebe eindringen können, ohne dass Verletzungen vorhanden wären. Sie nehmen ihren Weg durch die Intercellularräume in das Saftkanalsystem, von hier aus gelangen sie in die Lymphgefässe, um sich im Blute und in inneren Organen zu vermehren. Ueber die Weise, in welcher hiebei die Bronchialdrüsen funktionierend eintreten, erlaube ich mir kein Urtheil; nach der Analogie mit anderen Lymphdrüsen scheinen sie aber nicht Zurückhalter und eventuell Zerstörer der eingewanderten Bacterien zu sein, wie Infectionen z. B. mit Milzbrand schon zeigten.

Schliesslich sei es mir gestattet, dem Herrn Stabsarzt und Privatdocenten Dr. H. Buchner für die Erlaubniss, diese Versuche zu veröffentlichen und für seine vielfache Unterstützung bei dieser Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.